

Détermination des groupes de compatibilité végétative chez des souches africaines de *Fusarium oxysporum* isolées de palmiers à huile fusariés

C. DOSSA⁽¹⁾, A. PANDO-BAHUON⁽¹⁾, J. L. RENARD⁽²⁾ et C. BOISSON⁽¹⁾

Résumé : — La capacité à s'anastomoser de 15 souches du *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* provenant de 5 pays d'Afrique intertropicale a été étudiée à partir de mutants spontanés pour l'assimilation des nitrates. Elle a conduit à définir 5 groupes de compatibilité végétative.

Mots-clés : *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*, groupe de compatibilité végétative, palmier à huile, Afrique.

INTRODUCTION

Deux isolats d'un champignon pathogène sont végétativement compatibles lorsque leurs filaments sont capables de fusionner. La réunion de 2 noyaux différents dans une même cellule (hétérocaryose) permet la complémentation réciproque de déficiences nutritionnelles portées par chacun des noyaux et éventuellement l'échange de matériel génétique par la voie de la parasexualité. Autrement dit, chez un Champignon Imparfait comme le *Fusarium oxysporum*, la compatibilité végétative entre 2 isolats d'origines différentes traduit une relative proximité génétique. L'incompatibilité est en revanche témoin d'un certain isolement génétique. Il était donc intéressant, dans l'étude de la structure des populations du *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*, de déterminer le nombre et la constitution des groupes de compatibilité végétative.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a porté sur 15 souches provenant de 5 pays d'Afrique intertropicale, toutes isolées de palmiers fusariés et préalablement clonées par isolement monospore : clones 5, 6, 13, 14, 15 et 16 : Côte d'Ivoire (le clone 6 provient de l'isolat utilisé en routine par l'I.R.H.O. dans les tests de tolérance à la fusariose) ; clones 17, 18, 19, et 20 : Ghana (les clones 17 et 18 sont issus d'isolats provenant du même palmier, respectivement du milieu et du bas du stipe) ; clones 25, 26, et 27 : Bénin ; clone 28 : Zaïre ; clone 29 : Cameroun.

La possibilité pour 2 clones de s'anastomoser a été testée par la technique mise au point par Puhalla (2) modifiée par Correll *et al.* (1). Elle consiste à croiser, sur milieu minimum à base de nitrate (1), des mutants auxotrophes spontanés complémentaires incapables d'assimiler l'azote minéral sous forme de nitrate. Ces mutants sont de 3 sortes (1) : Nit1

(gène de structure de la nitrate réductase), Nit 3 (gène de régulation de la nitrate réductase) et Nit M (gènes de structure d'un cofacteur de la nitrate réductase). Les croisements sont réalisés entre un mutant Nit 1 et un mutant Nit M de la même souche (vérification de l'autocompatibilité) ou de 2 souches différentes. Les croisements Nit 1 x Nit M ont été retenus parce que le taux de réussite est plus élevé que dans les croisements Nit 1 x Nit 3 ou Nit 3 x Nit M (1). L'anastomose et la complémentation se manifestent par la formation, 7 à 10 jours après l'ensemencement (quelquefois jusqu'à 20 jours) dans la zone de confrontation, d'un mycélium aérien dense et abondant (alors que le mycélium des souches mutantes est ras et très dispersé sur le milieu minimum). Les 2 souches croisées sont alors considérées comme appartenant au même groupe de compatibilité. Dans le cas contraire (pas de complémentation apparente) et s'il n'y a pas auto-incompatibilité, il faut vérifier au préalable que le croisement réciproque (par exemple Nit M de A croisé par Nit 1 de B si le premier croisement était réalisé entre le Nit 1 de A et le Nit M de B) n'aboutit pas à une complémentation avant de conclure que les deux souches testées appartiennent à des groupes de compatibilité différents.

RÉSULTATS

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 1. Les 6 souches récoltées en Côte d'Ivoire appartiennent au même groupe de compatibilité ; il en est de même pour les 3 souches isolées au Bénin. De plus, elles sont intercompatibles et peuvent donc être rassemblées dans le même groupe de compatibilité désigné selon le code utilisé par Puhalla (2) VCG 0011. Les clones 17, 19 et 20 complémentent entre eux, mais pas avec le clone 18 ; les souches du Ghana, qui en outre ne sont pas compatibles avec les souches de Côte d'Ivoire et du Bénin, sont donc classées dans 2 groupes de compatibilité végétative différents : VCG 0012 (clones 17, 19 et 20) et VCG 0013 (clone 18). Les clones 28 et 29 sont autocompatibles mais ne complémentent ni entre eux, ni avec les clones des autres pays. Sont ainsi définis deux au-

(1) Laboratoire de Phytopathologie tropicale - ORSTOM - BP 5045 - 34032 Montpellier Cedex 1 (France).

(2) Directeur Division Phytopathologie IRHO/CIRAD - BP 5035 - 34032 Montpellier Cedex 1 (France).

TABEAU I. — Résultats des confrontations réalisées sur milieu minimum à base de nitrate entre des mutants complémentaires de clones de *Fusarium oxysporum* isolés de palmiers à huile fusariés. — (*Results of crossings on a nitrate minimum medium between complementary mutants generated from clones of Fusarium oxysporum isolated from vascular wilt-infected oil palms*).

Côte-d'Ivoire				Bénin					Ghana				Zaire		Cameroun
Clone N°	5	6	13	14	15	16	25	26	27	17	18	19	20	28	29
Côte-d'Ivoire	5	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	6		+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	13			+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	14				+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	15					+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	16						+	+	+	+	-	-	-	-	-
Bénin	25						+	+	+	-	-	-	-	-	-
	26							+	+	-	-	-	-	-	-
	27								+	-	-	-	-	-	-
Ghana	17									+	-	+	+	-	-
	18										+	-	-	-	-
	19											+	+	-	-
	20												+	-	-
Zaire	28													+	-
Cameroun	29														+

+ : Formation de mycélium hétérocaryotique dans la zone de confrontation — (*Formation of heterokarotic mycelium in the contact zone*)

- : Pas de complémentarité entre les mutants testés. — (*No complementation between the mutants tested*).

trois groupes de compatibilité : VCG 0014 (clone 28) et VCG 0015 (clone 29).

CONCLUSION

Les 15 souches de *Fusarium oxysporum* isolées sur palmiers à huile fusariés appartiennent à 5 groupes de compatibilité végétative. Il est remarquable de noter, d'une part, qu'aucun isolat du Ghana n'est compatible avec les isolats

de Côte d'Ivoire et ceux du Bénin (alors que le Ghana est situé géographiquement entre les 2 pays), d'autre part que 2 isolats obtenus à 2 niveaux différents sur le même arbre (clones 17 et 18) n'appartiennent pas au même groupe de compatibilité. Des études complémentaires permettront peut-être d'apporter une réponse à ces questions.

Remerciements: Nous remercions J. Pelseneer de l'Université Libre de Bruxelles qui nous a envoyé la souche du Zaire.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] CORELL, J.C., KLITTICH, C.J.R. and LESLIE, F.J. (1987) — Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology*, 77, 1640-1646.
- [2] PUHALLA, J.E. (1985). — Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Can. J. Bot.*, 63, 179-183.

Determination of vegetative compatibility groups in African *Fusarium oxysporum* strains isolated from vascular wilt-infected oil palms

C. Dossa (1), A. Pando-Bahuon (1), J.L. Renard (2) and C. Boisson (1)

INTRODUCTION

Two pathogenic fungi isolates are vegetatively compatible if their filaments are capable of fusion. The coupling of two different nuclei within a single cell (heterokaryosis) enables mutual complementation of the nutritional deficiencies brought by each nucleus, and possibly an exchange of genetic material via parasexuality. In other words, in an Imperfect Fungus such as *Fusarium oxysporum*, the vegetative compatibility of two isolates of different origins reflects a degree of genetic relatedness. Incompatibility, on the other hand, is a sign of a certain genetic isolation. It was therefore interesting to determine the number of vegetative compatibility groups and their constitution as part of the *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* population structure study.

MATERIAL AND METHODS

The study concentrated on 15 strains from 5 countries in tropical Africa, all isolated from vascular wilt-infected trees and cloned beforehand by single-spore isolation: clones 5, 6, 13, 14, 15 and 16: Ivory Coast (clone 6 was obtained from the isolate used routinely by IRHO in vascular wilt tolerance tests); clones 17, 18, 19 and 20: Ghana (clones 17 and 18 were obtained from isolates from the middle and base of the same stem respectively); clones 25, 26 and 27: Benin, clone 28, Zaire; clone 29: Cameroon.

The ability of two clones to anastomose was tested using the technique developed by Puhalla (2), modified by Correll *et al* (1). It consists in crossing complementary auxotrophic mutants incapable of assimilating nitrate as mineral nitrogen in nitrate form, on a nitrate-based minimum medium (1). There are 3 sorts of mutant (1): Nit1 (nitrate reductase structure gene), Nit3 (nitrate reductase regulation gene) and Nit M (nitrate reductase cofactor structure gene). Crossings were made between Nit1 mutants and Nit M mutants from the same strain (to check self-compatibility) or between 2 different strains. The Nit1 x Nit M crosses were adopted because the success rate is higher than for Nit1 x Nit3 or Nit3 x Nit M crosses (1). Anastomosis and complementation are seen in the formation of a dense and abundant aerial mycelium in the contact zone 7 to 10 (sometimes up to 20) days after plating (whereas the mycelium from mutant strains is thin and widely scattered on the minimum medium). In this case, the 2 strains crossed are considered to belong to the same com-

patibility group. If the opposite is true (no apparent complementation), and if the strain is not self-incompatible, checks should be made to see whether crossing in the opposite direction (i.e. Nit M from A crossed with Nit1 from B if the first cross was between Nit1 from A and Nit M from B) leads to complementation, before concluding that the two strains tested belong to different compatibility groups.

RESULTS

The results obtained are given in table 1. The 6 strains collected in the Ivory Coast come from the same compatibility group: the same goes for the 3 strains isolated in Benin. In addition, they are inter-compatible and can therefore be classed in the same compatibility group, using the coding system used by Puhalla (2): VCG 0011. Clones 17, 19 and 20 are complementary with each other, but not with clone 18; the Ghanaian strains, which furthermore are not compatible with those from the Ivory Coast and Benin, are therefore classed in 2 different vegetative compatibility groups: VCG 0012 (clones 17, 19 and 20) and VCG 0013 (clone 18). Clones 28 and 29 are self-compatible but not complementary, either with each other or with clones from other countries. Two other compatibility groups can therefore be defined: VCG 0014 (clone 28) and VCG 0015 (clone 29).

CONCLUSION

The 15 *Fusarium oxysporum* strains isolated from vascular wilt-infected oil palms belong to 5 vegetative compatibility groups. It is also remarkable that none of the Ghanaian isolates is compatible with the isolates from the Ivory Coast or Benin (although Ghana is between the two countries in geographic terms) and that 2 isolates obtained at 2 different levels on the same tree do not belong to the same compatibility group. Further studies will perhaps help to explain these phenomena.

Acknowledgements : We should like to thank J. Pelseneer from the "Université Libre de Bruxelles", who sent us the strain from Zaire.

RESUMEN

Determinación de grupos de compatibilidad vegetativa entre cepas africanas de *Fusarium oxysporum* aisladas de palmas africanas afectadas por fusariosis

C. DOSSA, A. PANDO-BAHUON, J.L. RENARD y C. BOISSON, *Oléagineux*, 1991, **46**, N° 4, p. 145-147.

La capacidad de formar anastomosis de 15 cepas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* procedentes de cinco países del África intertropical se estudió en mutantes espontáneos respecto a la asimilación de nitratos, y llevó a definir 5 grupos de compatibilidad vegetativa.

SUMMARY

Determination of vegetative compatibility groups in African *Fusarium oxysporum* strains isolated from vascular wilt-infected oil palms

C. DOSSA, A. PANDO-BAHUON, J.L. RENARD and C. BOISSON, *Oléagineux*, 1991, **46**, N° 4, p. 145-147.

The anastomosis ability of 15 *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* strains from 5 countries in tropical Africa was studied on wild-type mutants for nitrate assimilation. This led to the definition of 5 vegetative compatibility groups.

(1) Tropical Phytopathology Laboratory - ORSTOM - BP 5045 - 34032 Montpellier Cedex 1 (France)

(2) Director IRHO/CIRAD Phytopathology Division - BP 5035 - 34032 Montpellier Cedex 1 (France)